

ANTITUMOR AGENT

Patent number: JP56010117
Publication date: 1981-02-02
Inventor: MIZUNO DENICHI; ABE SHIGERU; BABA MASANORI
Applicant: KOTOBUKI SEIYAKU CO LTD
Classification:
- international: A61K35/78
- european:
Application number: JP19790086060 19790707
Priority number(s): JP19790086060 19790707

Abstract of JP56010117

PURPOSE: An antitumor agent, having an immune enhancing action, and comprising a water-soluble extract of a dandelion as a main constituent. **CONSTITUTION:** An antitumor agent comprising a water-soluble extract consisting of (A) a polysaccharide which consists of at least glucan and mannan as a main constituent and (B) a small amount of protein as active constituents. The extract is obtained by extracting and separating a dandelion (*Taraxacum platy carpum*), i.e. a plant belonging to the genus *Taraxacum* of the subfamily *Liguliflorae* of the family *Compositae* in taxonomy, and shows an antitumor action by enhancing the immunological reaction of the host. The agent is effective against not only an allogenic tumor model but also an isogenic tumor model.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

Laid open to public as JP-A-56-010117 on February 2, 1981

⑩ 日本国特許庁 (JP)

⑪ 特許出願公告

⑫ 特許公報 (B2) 昭62-6692

| | | | |
|---------------------------|------|--------------------|-----------------------|
| ⑬ Int. Cl. ¹ | 識別記号 | 厅内整理番号 | ⑭ 公告 昭和62年(1987)2月13日 |
| A 61 K 35/78 | ADU | 6640-4C | |
| // A 61 K 31/715 37/02 | | 7252-4C 7138-4C | 発明の数 1 (全4頁) |

⑮ 発明の名称 抗腫瘍剤

⑯ 特願 昭54-86060 ⑯ 公開 昭56-10117

⑯ 出願 昭54(1979)7月7日 ⑯ 昭56(1981)2月2日

⑰ 発明者 水野 伝一 鎌倉市大船町岡本18
 ⑰ 発明者 安部 茂 東京都足立区綾瀬4-22-21
 ⑰ 発明者 馬場 賢典 東京都港区南青山4-6-3 ケービーハウス101号
 ⑯ 出願人 寿製薬株式会社 長野県埴科郡坂城町大字坂城6351番地
 ⑯ 代理人 弁理士 永田 秀男 外1名
 ⑯ 審査官 水野 昭宣

1

2

⑰ 特許請求の範囲

1 タンポポから水可溶画分として、抽出分離される水溶性抽出物であつて、少なくともグルカン、マンナンからなる多糖体を主成分とし、少量の蛋白質をも含有する物質を有効成分とする抗腫瘍剤。

発明の詳細な説明

本願発明は、分類学上キク科タンポポ属として分類される植物から得られる抗腫瘍剤に関するものである。

近年、微生物あるいは、非高等植物由来で、宿主の免疫反応を促進する制癌性多糖類が報告されている。

本発明者は分類学上最も進化した高等植物といわれるキク科に属するタンポポから抽出分離される水可溶画分が優れた抗腫瘍性を示すことを見い出し、本発明をなすにいたつた。以下詳細に説明する。

本発明において用いられる原料は、分類学上キク科 (compositae) タンポポ亜科 (Liguliflorae) タンポポ属 (Taraxacum) に属する植物であつて、これに該当する植物は、日本では食用にも供される西洋タンポポ (Taraxacum officinale) を始めとして20種自生しており、又世界的には約100種が知られている。本願においては、単に「タンポポ」と記載した場合においても、以上にのべた分類学上タンポポ属

(Taraxacum) として分類される植物を意味するものとする。

本願抗腫瘍剤は、タンポポから水可溶画分として得られる水溶性抽出物であつて、粗画分をそのまま、あるいは、好ましくは再沈澱、透析等通常行なわれる簡単な精製操作によつて混在する不純物、金属イオン等を除去した後、凍結乾燥したものを有効成分とするものである。本願水溶性抽出物は、グルカン、マンナン等から成る多糖体を主成分とし、さらに若干の蛋白質を含有するものであつて、これらは一般に多糖体がそうであるように糖類が複雑に鎖状に連なり、そこに蛋白質が結合している構造をなすものと考えられる。

本願水溶性抽出物の組成は、原料タンポポ、あるいは抽出条件によつて若干相違するが、グルコースとマンノースとの比がおよそ2対1で、且つ約1%の蛋白質を含有し、糖含量が30~50%、窒素含量が1~2%であることによつて特徴づけられている。

本願抽出物は、宿主の免疫反応を促進することにより優れた抗腫瘍作用を示すものであつて、特に従来知られているこの種の抗腫瘍剤が、主として同種腫瘍的 (Allogeneic) な腫瘍モデルに対してのみ有効であるのに対して、同系腫瘍的 (syngeneic) な腫瘍モデルに対しても本願水溶性抽出物は有効である点に著しい特徴を有するものである。

以下薬理試験例及び一製造実施例を例示するが、上述の趣旨により、本願抽出物の製造方法は、これに限られるものでないことは明らかである。

〔実施例〕

タンポポ、たとえば西洋タンポポ (*Taraxacum officinale*) の全草を適宜細断乾燥したものに精製水を加えて、70~80°Cで数時間加熱した後沪過する。沪液に35~50%程度のエタノール水溶液を加え27°C付近で2日間放置した後、上清を棄て、生じた沈澱物を沪取する。この沈澱物に精製水(脱イオン水)を加え、一昼夜煮沸した後沪過し、沪液を水で1昼夜透析した後、透析内液を凍結乾燥して目的物を得る。收率は乾燥物換算で5~10重量%である。

〔試験例 1〕

急性毒性試験

ddY系マウスを用いて、LD₅₀ (経口) を求めてみると、LD₅₀は10g/kg以上であることが確認された。マウスにこれ以上の経口投与が不可能に近いことを考えると本願抽出物は非常に毒性の低い物質であると考えられる。

〔試験例 2〕

ddY-エーリツヒ系腫瘍に対する作用

この検定法は、腫瘍細胞をマウス右ソケイ部皮下に移植し日を追つて、その腫瘍の径を測定することにより効果を検定するもので、宿主介在性の抗腫瘍作用を検定するのに適した方法である。なお薬物は腫瘍細胞内あるいはその回りに、投与せずとも腹腔内投与で効果が現われる。第1図に示す如く、本願抽出物30mg/kg、150mg/kg投与により、薬剤投与後直ちに効果が現われるのではなく、薬剤投与期間(1~10日間)後約1週間ほどしてから腫瘍径の減少が観察される。このことは本願物質が宿主介在性の免疫反応増強物質であることを示唆するものであり、更に21日目に行なつた、腫瘍細胞より調製した抗原分画を投与することにより惹起される遅延型アレルギー反応(以下T-DHR試験と略す、詳細は後述)が担癌コントロールに比べ上昇していることからも、この物質が宿主介在性の作用機序を有することを支持するものである。参考までに述べれば6メルカブトプリン、マイトイシンCなどの代謝拮抗物質又、アルキル化剤の類の制癌剤では、この種の増殖抑制の曲線の型からも本願抽出物は少なくとも上記2種の制癌剤とは異なるタイプの作用機序を有するものであることが予測できる。

〔試験例 3〕

5 本願抗腫瘍剤の最適投与時期の検討

試験例2で明らかな如く、本願抽出物は、投与期間中及びその直後に効果を発揮する類のものではないので、本願抽出物の最適の投与時期を検討する目的で、試験例2と同様の系を用いて投与時期を変えて、それに応ずる抗腫瘍作用を検討した。その結果を表-1に示す。

表 - 1

35日後の腫瘍重量

(エーリツヒ同型

腫瘍)

15

| 群 | 投与日数 | 腫瘍重量 (平均±S.E.) (g) |
|-----------------|----------|-----------------------|
| 対照群 | | 5.23±1.82 |
| 本願物質 30mg/kg | 1.....10 | 3.92±0.75 |
| | 7.....16 | 2.03±0.66 |
| | 2.....20 | 1.62±0.49 |
| | (隔日投与) | |

これによれば、いわゆる前期投与(day~10)においては効果は小さいが投与時期をおくらせた(day7~16)投与群及び(day2~20)隔日投与群においては有意な腫瘍径の減少を認めた。この特筆すべき現象の原因について現在検討中であるが、人癌が現実には発癌の段階で治療を受け始めるのではなく、ある程度発達した段階で、はじめて治療を受けるのが実状であることを考えると、甚だ意義の大きい結果ということができる。

〔試験例 4〕

35 抗腫瘍性と関連した免疫反応の検討

試験例2で述べたように、本願抽出物が腫瘍増殖を抑制し始める時期において、いわゆるT-DHR反応が担癌対照群より増加している事実に注目し、この反応について更に詳細に検討した。

実験は腫瘍抗原分画を序め調製し、その分画を同じエーリツヒ腫瘍細胞を接種したマウスの足蹠に投与することにより、その投与部位でいわゆる古典的な抗原抗体反応を起こす。その結果、投与部位においてリンホカイン等がT-cellより誘起

され、足蹠が膨満するので、この厚みを測定することにより、抗原抗体反応の程度を知る方法である。本実験は腫瘍接種後21日目に行なわれた。この結果を表-2に示す。

表 - 2
接種後21日目における
T-DHR反応

| 群 | 足蹠厚增加 (平均±S.E.) (X10mm) |
|--------------------------|----------------------------|
| 対照群 (担癌マウス) | 0.83±1.35 |
| 本願物質。30mg/kg 1--10日投与 | 3.33±1.68 |
| 11--20日投与 | 7.33±1.24 |
| 2--20日(隔日投与) | 6.88±1.35 |
| レソチナン 1.7mg/kg | 6.83±1.35 |

表-2に示す如く、本願抽出物のいわゆる前期投与(day1-10)においては足蹠の厚み(footpad thickness)の増大は、それ程大きくなはないが、(day11-20)の後期投与群と(day2-20)隔日投与群においては著明な増大が認められる。表-1に示した腫瘍増殖抑制効果の強さと、このT-DHR反応の強さは、この様に相関関係にあることは注目に値する。更に阿部等の結果(Abe, S., Ohkuma, M., Yamazaki M., and Mizuno, D. Gann 67 685~692 (1976))によると担癌マウスのT-DHR反応は腫瘍接種後1週間程度でピークに達し、それ以後は低下の傾向にあることが報告されている。従つて、(day11-20)の後期投与群で癌が退縮し、かつ(day21)でT-DHR反応が上昇しているという事実は、腫瘍抗原に対する抗原抗体反応が接種後経時に減衰していくのを本願抽出物が元のレベルに回復させる作用があることを示唆している。

〔試験例 5〕

同系腫瘍(Syngeneic tumor)に対する作用

本願抽出物のような免疫賦活剤が同種腫瘍(Allogeneic tumor)以外の同系腫瘍(Syngeneic tumor)に対しても同様に有効であるか否かという問題は、人癌が実際に同系腫瘍であるということを考える時に、重要な意味を持つ

ている。そこで次に同系腫瘍であるDDD-MCS8を用いた抗腫瘍作用の検索を行なつた。

表 - 3

DDD-MCS8同系腫瘍に対する
本願抽出物の作用

| 群 | 完全退縮動物 | 30日後の腫瘍重量(g) (平均±S.E.) |
|--------------------|--------|---------------------------|
| 対照群 | 0/6 | 1.55±0.42 |
| 本願物質 30mg/kg | 3/7 | 0.70±0.30 |
| 150mg/kg | 0/7 | 1.78±0.32 |
| ビシバニール 300mg/kg | 0/7 | 2.05±0.26 |

結果は表-3に示すように本願抽出物は30mg/kg (day1-10)投与で有効であり、同時に検索したビシバニールに比しても有効性が高く、特に完全退縮を示した例が7例中3例に観察された。更にもう一つの代表的同系腫瘍であるC₃H-MM₄₆を用いた実験においても本願抽出物は有効性を示した。この結果を第2図に示すが、本願抽出物が同種腫瘍のみならず、同系腫瘍に対しても有効であることを証左である。

〔試験例 6〕

マクロファージ腫瘍細胞破壊活性に対する作用

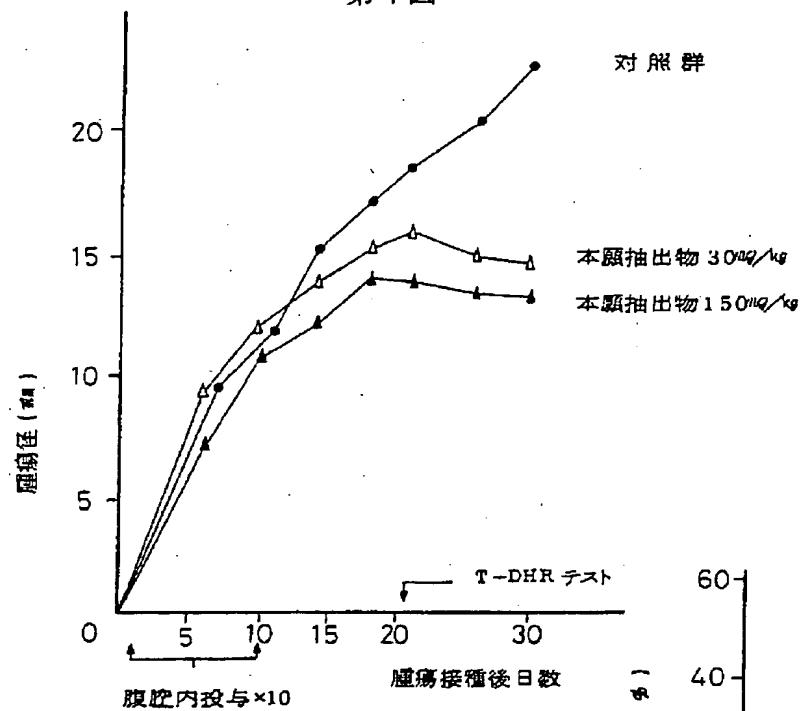
以上述べてきたような本願抽出物の抗腫瘍作用の機序を解明する手段としてC₃H-MM₄₆担癌マウスに本抽出物(40mg/kg腹腔内)3回投与後その腹腔細胞を採取し、癌細胞と混合し、Yamazaki等の方法(Yamazaki, M., et al. Gann 66 489~497 (1975))に従いADMC (Anti-body dependent macrophage cytolysis)検定を行なつたところ、本願抽出物投与によりマクロファージの癌細胞破壊(cytolysis)活性の上昇が見られ、(第4図)本願抽出物の抗腫瘍効果発現のためにはマクロファージが関与していることが示唆された。

図面の簡単な説明

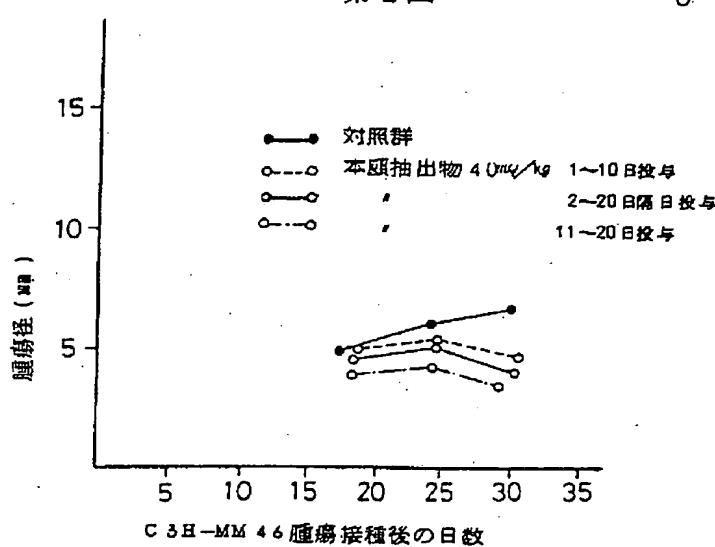
第1図は、本抗腫瘍剤のddY-エーリツヒ固型腫瘍に対する作用を示すグラフである。第2図はC₃H-MM₄₆同系腫瘍に対する本願抗腫瘍剤の作用を示すグラフである。第3図は本願抗腫瘍剤のマクロファージ腫瘍細胞破壊活性を示すグラフで

ある。

第1図



第2図



第3図

